

# 口腔内細菌によつての野菜中の 硝酸塩から亜硝酸塩の生成

松 浦 康

緒 言

亜硝酸塩は2級アミンと反応して、発癌性を有する<sup>1) 2)</sup>ニトロサミンを生成する<sup>3) 4) 5) 6)</sup>。この反応は酸性、高温で促進されるとされており<sup>6)</sup>、ヒトの胃内はニトロサミンの生成に好都合な条件を備えている。この意味で胃内における亜硝酸塩の存在とその濃度が問題になる。

亜硝酸塩の供給源については、食肉製品等に添加されている外、食品中に含まれる硝酸塩を還元する腸内細菌によつて生成すること<sup>7)</sup>、及び野菜の漬物の中に含まれる亜硝酸塩<sup>8)</sup>の摂取などについて報告がある。

本研究では、口腔内細菌の作用により、硝酸塩から亜硝酸塩が生成される場合のあることを見出し、野菜が口腔内及び胃内において亜硝酸塩の供給源となり得ることを報告する。

## 実 験 方 法

### 1 亜硝酸塩の定量

原田らの方法によつた<sup>9)</sup>。

### 2 硝酸塩の定量

川名らの方法によつた<sup>10)</sup>。

### 3 唾液の硝酸塩に対する作用

新鮮なヒト唾液 0.5 ml, 2.0 mM硝酸ナトリウム水溶液 1.0 mlの組成で、37℃で2時間作用させ、適当に希釈して亜硝酸塩の定量をおこなつた。

### 4 野菜の中の硝酸塩に対する唾液および唾液より分離した細菌の作用

野菜は大根、ホーレン草、セロリ、トマトを使用し、蒸留水中で大根は15分、ホーレン草は3分間煮沸し、セロリ、トマトは生のまま、それぞれ、1/2量の水を加えてワーリングブレンダーで磨砕後、その1.5 gをとり、表IのJ.I, K.K, Y.Nの新鮮な唾液、又はJ.Iより分離した細菌の液体培地浮遊液 0.5 mlを加えて、37℃で作用させた。

### 5 胃液と食品との混合物のpHの測定

大根、ジャガイモ、ブタ肉をそれぞれ煮沸したのち、磨砕して胃液と混合してガラス電極で水素イオン濃度を測定した。胃液は臨床検査用に採取した空腹時胃液を用いた。

### 6 細菌の分離培養

液体培地はカツオ肉エキス 4.0 g, ペプトン 10.0 g, ブドウ糖 1.0 gを1ℓの水に溶かして、pHを7.0とした。固形培地は液体培地に寒天を15.0 g溶かしてpHを7.0とした。

新鮮な唾液より固形培地を使って塗抹により菌を分離し、それぞれについて、亜硝酸塩生成能を検定した。

## 実 験 結 果

### 1 唾液による硝酸塩より亜硝酸塩の生成

亜硝酸塩生成能を持っている場合と持っていない場合があり、生成能を有するヒトは、30例中25例であった。また、生成量は各個体により異なる。(表1)

表I ヒト唾液による硝酸塩から亜硝酸塩の生成

検 体	J.I	K.K	K.N	H.O	Y.M	K.O	H.T	Y.A	Y.O	S.M	A.K	M.K	T.U	Y.I	Y.N
生 成 量 mM	1.20	1.10	0.97	0.89	0.78	0.59	0.51	0.38	0.36	0.34	0.33	0.29	0.23	0.23	0.23

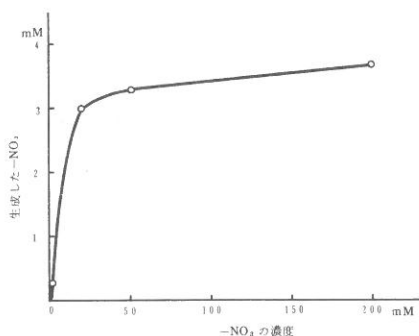
  

検 体	E.K	K.S	M.O	H.M	T.M	Y.T	O.J	N.U	K.Y	N.A	K.M	T.I	Y.A	E.O	Y.M
生 成 量 mM	0.21	0.20	0.19	0.19	0.10	0.08	0.06	0.05	0.03	0.01	0	0	0	0	0

### 2 唾液の亜硝酸塩生成に対する基質濃度の影響

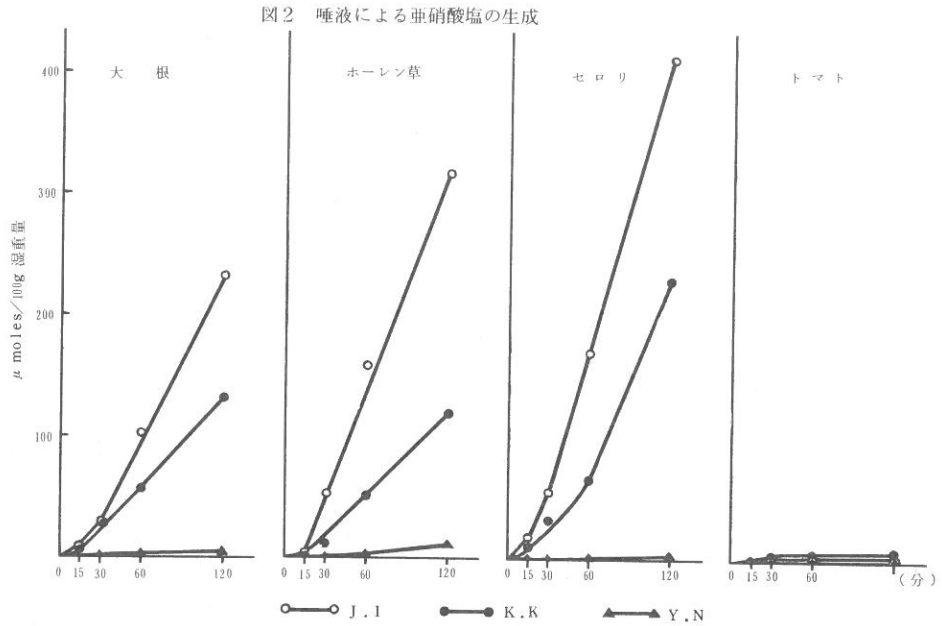
約2.0mMまでは濃度に比例して亜硝酸塩の生成量は増加するが、以後、ほぼ一定となる。(図1)

図1 亜硝酸塩生成に対する基質濃度の影響



### 3 野菜に唾液を作用させた場合の亜硝酸塩生成量

大根、ホーレン草、セロリのように硝酸塩含量の多いものは生成量も多くなっている。一方、Y.Nは、亜硝酸塩生成能の小さい唾液として選んだのであるが、この場合、硝酸塩含量の大きい野菜でも、その亜硝酸塩生成量は少ない。尚、使用した野菜の硝酸塩量は、大根  $2.230 \mu\text{moles}/100g$  (煮沸後)、ホーレン草  $2.070 \mu\text{moles}/100g$  (煮沸後)、セロリ  $3.070 \mu\text{moles}/100g$ 、トマト  $1.28 \mu\text{moles}/100g$  であった。(図2)



#### 4 亜硝酸塩生成に対する pH の影響

図3に示す。

#### 5 ヒト唾液の亜硝酸塩生成分画

ヒト唾液に同量の生理的食塩水を加え 3,000 r.p.m で遠沈後、沈渣と上清に分けて、それぞれ硝酸塩溶液に作用させた。沈渣の部分のみが亜硝酸塩を生成した。

#### 6 分離した細菌による亜硝酸塩の生成

硝酸塩から亜硝酸塩を生成するグラム陽性の球菌を分離した。この菌をホーレン草とセロリに作用させた。図4に示すように、唾液の場合と異なり、大きな lag time が存在して、その後、急速に亜硝酸塩を生成した。

図3 亜硝酸塩生成に対する pH の影響

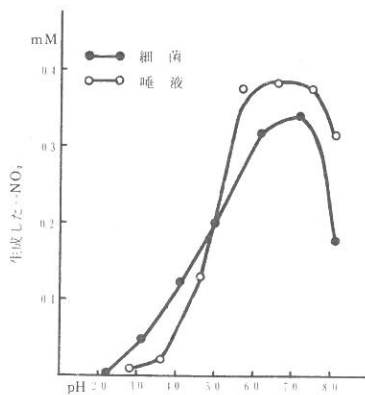
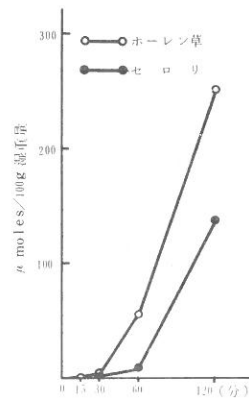


図4 細菌による亜硝酸塩の生成



## 7 胃液と食品の混合物の水素イオン濃度

表 2 に示す。

表 2 胃液と食品の混合物の pH

胃 液 ※	食品の量 g	pH		
		大 根	ジャガイモ	ブ タ 肉
6.0 ml (pH 2.8)	2.0 g	2.3	2.7	2.4
	6.0	3.2	4.1	4.5
	10.0	3.7	4.6	5.3

※ 胃液の 1/2 量の水を加えた。

## 考 察

腸内細菌によって硝酸塩から亜硝酸塩の生成されることは、よく知られているが、ヒトの唾液（口腔内細菌）にもこの作用のあるものがあり、硝酸塩溶液及び野菜に含まれる硝酸塩を還元して亜硝酸塩を生成することが証明できた。その作用の強さは個体によって異なり、非常にその作用の強い場合や、ほとんどその作用のない場合等、種々の段階がある。

亜硝酸塩の生成量は 2.0 mM 溶液までは濃度に比例して増加する。野菜の中の硝酸塩含量は種々報告があるが<sup>8) 10) 11) 12)</sup>、川名等<sup>10)</sup>によれば比較的多いものは大根、ホーレン草、セロリ、パセリ等であり、 $\text{NO}_3\text{-N}$ としてそれぞれ 4.3.3 mg/100 g, 3.5.8 mg/100 g, 5.0.0 mg/100 g, 3.3.0 mg/100 g である。本実験では硝酸塩含量の多いものとして、大根、ホーレン草、セロリ、少ないものとしてトマト (1.7 mg/100 g  $\text{NO}_3\text{-N}$ ) を用いた。その結果、同一のヒトの唾液を用いた場合、野菜においても硝酸塩含量の多いものは多くの亜硝酸塩を生成した。

硝酸塩水溶液に唾液を作用させて検討した結果より（表 1）作用の強いものとして J.I と K.K を、弱いものとして Y.N を選んだ。野菜の中の硝酸塩から亜硝酸塩の生成量は、硝酸塩水溶液の場合と同様、唾液の亜硝酸塩生成能力の差がはっきり表われており、J.I と Y.N を比較すると 2 時間作用の値で大根で 4.5 倍、ホーレン草で 2.4 倍、セロリで 10.0 倍程度の差がある。

唾液の硝酸塩還元力の存在分画はその沈渣の部分にのみ存在するので、唾液の中に存在する細菌によるものと考えて、J.I の唾液より細菌の分離培養をおこない硝酸塩を還元して亜硝酸塩を生成するグラム陽性の球菌を分離した。この菌は野菜からも亜硝酸塩を生成した。

亜硝酸塩生成の pH による影響を検討した結果、唾液では pH 5.5～7.5 に至適 pH を有し、pH 4.5 附近でもその約 1/3 の生成能を有する。細菌のみの場合もほぼ同様の結果を示した。

胃における pH の変化が問題になるので、その参考として、胃液と食物の混合物の pH を測定した。食品はかなりの中和力を示して、特に肉の場合その pH はかなり上昇した。勿論最終的には胃内における食物の pH は胃液の pH に近いものになると考えられるが、胃の中に入って直ちに細菌の活動できない pH に下ってしまうのではないと考えられる。

口腔内から胃内に至るまでの亜硝酸塩の生成量は、その有する細菌の種類と量、食品中の硝酸塩濃度、及び特に胃内における水素イオン濃度の三者によって決定されると考えられ、その個体差が大きいと推定される。

## 結 論

1. 野菜に含まれる硝酸塩がヒト胃内及び胃に至る経路において、亜硝酸塩の供給源になり得る。  
しかしその生成量は個体差がある。
2. 口腔内より硝酸塩を還元して亜硝酸塩を生成するグラム陽性の球菌を分離した

## 文 献

- 1) P.N. Magee, J.M. Barnes : Adv. in Cancer Res. 10 163 (1967)
- 2) H. Druckrey, R. Preussmann : Z. für Krebsforschung  
69 103 (1967)
- 3) J. Sander, F. Schweinsberg, H.P. Menz :  
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 349 429 (1968)
- 4) S.S. Epstein : IARC Scientific publications No. 3. P109 (1972)
- 5) C.L. Walters, M.J. Suxby and B.E. Newton : ibid P 122 (1972)
- 6) 酒井綾子, 谷村顕雄 : 食衛誌 12 170 (1971)
- 7) W. Schuphan, H. Schulottman : Z. Lebensmittel.  
Untersuch. u-Forsch. 128 71 (1965)
- 8) 柳原紀子, 菰田 快, 米山 平, 山田正一 : 食衛誌 4 343 (1963)
- 9) 原田基夫, 中村洋子, 谷村顕雄 : 日本食品衛生学会 22 回講演要旨 P 5 (1971)
- 10) 川名清子, 和田 裕, 高橋武夫, 上条昌弥, 浅名倫子, 河村太郎, 菅野三郎 : 食衛誌  
12 506 (1971)
- 11) 菅野三郎, 和田 裕, 中岡正吉, 川名清子, 長谷川裕紀子 : 食衛誌 7 72 (1965)
- 12) H. Kamm : J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 48 892 (1965)